ICS
CCS 点击此处添加 CCS 号

DB

地　方　标　准

DB XX/T XXXX—XXXX

大球盖菇液体菌种生产技术规程

Technical specification for liquid spawn production of Stropharia rugosoannulate

（征求意见稿）

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX－XX－XX 发布　　XXXX－XX－XX 实施

发 布

大球盖菇液体菌种生产技术规程

1 范围

本标准规定了大球盖菇液体菌种术语定义及生产的基本要求，主要包括制作要求、生产工艺流程、质量要求、技术要求、生产记录与存档。

本标准适用于大球盖菇液体菌种的生产。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 5749 生活饮用水卫生标准

GB 50073 洁净厂房设计规范

GB/T 12728 食用菌术语

NY/T 528 食用菌菌种生产技术规程

NY/T 2375 食用菌生产技术规范

NY/T 1731 食用菌菌种良好作业规范

3 术语和定义

GB/T 12728 界定的术语和定义适用于本文件。

3.1 液体菌种

液体菌种是指在装有液体培养基的容器中，通过控制温度、不断通气搅拌或振荡，获得的大量菌丝体片段或菌丝球的液体形态的食用菌菌种。

4 生产要求

4.1 环境条件

应符合 NY/T 528 的规定。

4.2 生产车间

应符合 GB 50073 的规定。

4.3 生产原料

培养基生产用水应符合 GB 5749 的要求，化学投入品应符合 NY/T 2375 要求，天然材料要求新鲜、无霉变、无螨、无虫、洁净、干燥。

4.4 菌种选择

选用菌丝生长旺盛、高产、优质、抗逆性强的菌种。

5 生产工艺

5.1 工艺流程

母种→摇瓶液体菌种→发酵罐液体菌种。

5.2 母种制备

5.2.1 培养基配方

推荐培养基配方：马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、蛋白胨 3 g、磷酸二氢钾 1.5 g，硫酸镁 1 g，琼脂粉 15 g~20 g，水 1000 mL。

5.2.2 母种培养基制作

母种培养基按照推荐培养基配方进行配制，装入试管（18 mm x 180 mm 或 20 mm x 200 mm）中，分装量为试管长度的 1/5，使用硅胶塞封口；将试管置于高压蒸汽灭菌锅中，0.1 Mpa 灭菌 30min。灭菌后将试管趁热排放在斜面板上冷却。

5.2.3 接种与培养

在无菌条件下，用接种钩取黄豆粒大小的初始菌种接种至母种培养基中，24 ℃～26 ℃避光培养，菌丝长满斜面后检验合格即可使用。

5.2.4 母种质量要求

培养期间每天检查，及时淘汰染菌或劣势菌种。菌丝长满管后逐支进行感官和菌丝微观特征检验，合格菌种进入生产流程。

5.3 摇瓶液体菌种生产

5.3.1 摇瓶液体菌种培养基配方

推荐选用以下配方：

a) 配方 1：可溶性淀粉 20 g/L、麸皮 5 g/L、磷酸二氢钾 2 g/L、维生素 C 5mg/L，pH 自然；

b) 配方 2：玉米粉 20 g/L、麸皮 5 g/L、磷酸二氢钾 2 g/L、维生素 C 5mg/L，pH 自然；

c) 配方 3：可溶性淀粉 20 g/L、豆粕粉 5g/L、磷酸二氢钾 2 g/L、维生素 C 5mg/L，pH 自然；

d) 配方 4：玉米粉 20 g/L、豆粕粉 5g/L、磷酸二氢钾 2 g/L、维生素 C 5mg/L，pH 自然。

5.3.2 培养基配制

按液体培养基配方配制，混合均匀，装入 250 mL、500 mL 或 1000 mL 无色玻璃三角瓶中，装液量宜为摇瓶容量的 1/4，瓶塞封口，并用报纸或牛皮纸包扎，置于高压蒸汽灭菌锅中，在 0.1 Mpa 下灭菌 30 min。

5.3.3 接种

待培养基冷却至 25℃以下，在无菌条件下，用接种铲切取 3～5 块（3～5）mm×（3～5）mm 的母种块迅速转接于摇瓶培养基内，封口。

5.3.4 培养

24 ℃～26 ℃条件下，静置培养 24 h，然后置于摇床上震荡暗光培养，转速 140 r/min～160 r/min，培养时间 7 d～10 d。

5.3.5 摇瓶液体菌种质量要求

菌液澄清透明，菌球均匀密集，无异味，镜检无杂菌、菌丝形态正常。

5.4 发酵罐液体菌种生产

5.4.1 推荐培养基配方

在 5.3.1 配方的基础上应加入 0.1mL/L 的消泡剂。

5.4.2 培养基配制

将配制好的培养基材料搅拌均匀，倒入或用泵抽入处理好的发酵罐中，加水定容至所需体积。培养基投料总量为罐体总容积的 60 %~80 %。拧紧上料口盖，在 0.1 Ma 压力下灭菌 40 min~60 min。

5.4.3 接种

灭菌结束后培养基温度冷却至 24℃以下，利用火焰保护接种，接种量为罐内培养基总体积的 1 %~2 %。

5.4.4 培养

根据菌丝生长情况，适时调节进气阀，通入适量无菌空气，同时调节排气阀，维持罐压。

培养具体要求如下：

a）罐压：0.02 Mpa~0.05 Mpa；

b）罐温：25 ℃±2 ℃；

c）通气量： 1:0.5~1.2 [V/(V·min)]（料液体积/空气体积/每分钟）；

d）培养时间：6~9 d。

5.4.5 液体菌种检测

每隔 24 h 从取样口取样检查 1 次，培养结束后肉眼观察菌丝球密集、培养液澄清、无异味，镜检无杂菌。

5.4.6 贮藏

大球盖菇液体菌种生产后应立即使用，如不能立即使用应进行贮藏。贮藏条件：在发酵罐内注入无菌空气，保持罐压 0.01 Mpa~0.03 Mpa，料温 4 ℃~10 ℃可保存 3 d，11 ℃~15 ℃可保存 2 d。

6 记录和存档

母种、摇瓶液体菌种和发酵罐液体菌种生产的每个环节都应有详实的生产记录，并妥善保存 2 年以上。